

Esposizione a inquinanti organoclorurati ed endometriosi: minireview

M.G. PORPORA¹, S. RESTA¹, E. FUGGETTA¹, R. BRUNELLI¹, G. PERRONE¹, F. D'ITRI¹,
P. STORELLI¹, L. MANGANARO², E. DE FELIP³

RIASSUNTO: Esposizione a inquinanti organoclorurati ed endometriosi: minireview.

M.G. PORPORA, S. RESTA, E. FUGGETTA, R. BRUNELLI,
G. PERRONE, F. D'ITRI, P. STORELLI, L. MANGANARO, E. DE FELIP

L'endometriosi è una patologia ginecologica caratterizzata dalla presenza di tessuto endometriale al di fuori della cavità uterina, più frequentemente nella pelvi. L'etiopatogenesi di questa malattia non è ancora stata completamente chiarita. L'endometriosi è probabilmente una patologia multifattoriale. Gli inquinanti ambientali organoclorurati persistenti (POPs), in particolare i policlorobifenili (PCBs), sembrano avere un ruolo nello sviluppo di questa patologia, anche se i risultati dei principali studi clinici sono spesso discordanti. Inoltre, non è chiaro il meccanismo con il quale queste sostanze possano influenzare la comparsa e lo sviluppo dell'endometriosi. È possibile che i POPs facilitino l'impianto e la progressione della malattia interferendo con l'omeostasi endocrina e/o attraverso il loro effetto sul sistema immunitario.

Lo scopo di questa breve review è di riportare i dati dei principali studi presenti in letteratura, che hanno valutato se esiste una correlazione tra endometriosi ed esposizione a POPs.

SUMMARY: Exposure to organochlorinated environmental pollutants and endometriosis: a mini literature review.

M.G. PORPORA, S. RESTA, E. FUGGETTA, R. BRUNELLI,
G. PERRONE, F. D'ITRI, P. STORELLI, L. MANGANARO, E. DE FELIP

Endometriosis is a gynecological disease, which involves the growth of endometrial tissue outside the uterine cavity, commonly in the pelvic region. The etiology of the disease is unclear, but multiple factors may contribute to its pathogenesis. Environmental organochlorinated pollutants, particularly dioxins and polychlorinated biphenyls (PCBs), are thought to play a role in the development of this disease; however, the results of clinical trials are discordant, and it is not clear how the effect of exposure to these compounds is linked to endometriosis. Their effects on cytokines, immune system, hormones and growth factors are thought to increase the risk of endometriosis.

The purpose of this review is to provide an overview of epidemiological studies, which have evaluated the relationship between endometriosis and exposure to persistent organochlorinated pollutants.

KEY WORDS: Endometriosi - 2,3,7,8-tetraclorodibenzo-p-diossina (TCDD) - Policlorobifenili (PCB) - Inquinanti Organici Persistenti - Pesticidi organo clorurati - Composti diossina-simili.
Endometriosis - 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) - Polychlorobiphenyls (PCBs) - Persistent Organic Pollutants - Organochlorinated pesticides - Dioxin-like compounds.

Endometriosi e inquinanti organici persistenti

L'endometriosi, colpisce circa il 10% delle donne in età fertile, ed è spesso associata a dismenorrea, do-

lore pelvico cronico e/o infertilità. La sintomatologia dolorosa può essere grave e invalidante soprattutto quando sono presenti lesioni profonde (1). Inoltre le lesioni ed i suoi sintomi possono recidivare in oltre il 50% delle pazienti. I fattori che determinano la tendenza alla recidiva non sono ben chiari; certamente pregressi interventi, lo stadio della malattia e la presenza di aderenze al primo intervento ne aumentano il rischio (2). L'incidenza e la severità della patologia sono in continuo aumento (3,4). L'etiopatogenesi dell'endometriosi è ancora poco chiara ma la malattia sembra avere una genesi multifattoriale; è proba-

¹ "Sapienza" Università di Roma, Roma, Italia
Dipartimento di Scienze Ginecologico-Ostetriche e Scienze Urologiche

² "Sapienza" Università di Roma, Roma, Italia
Dipartimento di Scienze Radiologiche, Oncologiche e Anatomopatologiche

³ Istituto Superiore di Sanità, Roma, Italia

bile, infatti, che fattori ormonali, immunologici, genetici e ambientali siano coinvolti nel causare la malattia (5,6).

La possibilità che l'esposizione agli inquinanti ambientali contribuisca alla sua insorgenza e sviluppo è stato oggetto di dibattito scientifico da oltre vent'anni. Il primo composto che ha suscitato grande interesse è il 2,3,7,8-tetraclorodibenzo-p-diossina (TCDD) o "diossina", sottoprodotto di alcuni processi di combustione ed incenerimento di rifiuti. È esso il prototipo di un gruppo di sostanze che hanno caratteristiche chimiche simili definiti *Persistent Organic Pollutants* (POPs) (7). I POPs sono un gruppo di inquinanti diffusi nell'ambiente tra i quali figurano pesticidi (DDT, aldrin, clordano, ecc.), prodotti di uso industriale [policlorobifenili (PCB), esaclorobenzene (HCB), polibromodifenil eteri (PBDE)] e sottoprodotti di reazioni di combustione come le "diossine" [policlorodibenzodiossine o PCDD) e policlorodibenzofurani (PCDF)]. I POPs sono tutti caratterizzati da elevata persistenza ambientale e biologica e da un'ampia gamma di effetti tossici. L'esposizione della popolazione generale a questi composti è inevitabile: sono ubiquitari, molto stabili, estremamente persistenti nell'ambiente e nei sistemi biologici, capaci quindi di bioconcentrarsi negli organismi e di accumularsi nella catena alimentare. I POPs sono inquinanti che, una volta introdotti nell'ambiente, entrano nelle catene alimentari e, in virtù della loro lipofilia e persistenza, si accumulano nella frazione lipidica degli organismi e aumentano di concentrazione salendo di livello trofico. L'esposizione alimentare rappresenta la maggiore fonte (circa il 90%) di assunzione di questi inquinanti. Per questi motivi sono state intraprese numerose azioni normative, a livello comunitario e internazionale, per cercare di ridurre il loro impatto ambientale e sanitario.

Questi composti possono interferire con il sistema endocrino ("interferenti endocrini") e con il sistema immunitario, causando gravi patologie e ostacolando la normale funzione riproduttiva nell'uomo e negli animali. Gli interferenti endocrini (EDCs) sono composti che possono agire sul sistema endocrino e creare effetti dannosi sull'apparato genito-urinario, sul sistema nervoso e su quello immunitario, sia nella specie umana che negli animali. Queste sostanze possono mimare, ridurre o in alcuni casi bloccare completamente gli effetti degli ormoni endogeni. L'ipotesi che l'esposizione ad inquinanti ambientali possa svolgere un ruolo nella eziologia della malattia è stato suggerito da Rier e collaboratori (8). Nello studio condotto sulle scimmie, cronicamente esposte a TCDD, è stato osservato un aumento dose-dipendente dell'incidenza e della gravità di endometriosi spontanea. Anche se fortemente criticato da alcuni scienziati (9,10) questo

lavoro ha aperto nuove strade per ulteriori ricerche sulla relazione tra endometriosi e inquinanti ambientali.

L'associazione tra TCDD, diossine, PCB e endometriosi è stata studiata da numerosi ricercatori, dando risultati contrastanti (4,5,11-14). Nel 2002, Eskenazi et al. (15) hanno valutato il ruolo della TCDD nello sviluppo di endometriosi nelle donne di Seveso che sono state esposte a massive quantità di questa sostanza nel luglio del 1976, quando un'esplosione chimica ha disperso grandi quantità di TCDD nell'ambiente. I ricercatori non hanno trovato un'associazione significativa tra la presenza di endometriosi e le concentrazioni di TCDD nel siero, ma solo un lieve aumento della patologia (15). Alcuni studi successivi hanno confermato l'ipotesi che l'endometriosi sia legata alla esposizione ad alcuni PCBs (4,5,13) mentre altri studi non confermano tale nesso (14,16,17).

Heilier et al. (13) hanno osservato una correlazione tra l'endometriosi e aumento delle concentrazioni di diossina e PCB diossina-simili. Lo studio, condotto su donne con endometriosi peritoneale e/o profonda, ha rilevato livelli sierici maggiori di TEQ nei casi rispetto ai controlli. Tsukino et al. (14), invece, hanno trovato che le pazienti con endometriosi avevano livelli più bassi di TEQ, rispetto ai controlli. Nello studio di Tsukino, (14) tuttavia, erano state incluse nel gruppo di controllo anche pazienti con stadio I di endometriosi e donne infertili, mentre il gruppo di controllo nello studio di Heilier (13) era costituito solo da donne sane senza infertilità o endometriosi. Queste differenze nella selezione dei gruppi di controllo probabilmente contribuiscono ad ottenere risultati differenti.

Molti studi hanno investigato sui possibili meccanismi implicati nella relazione tra endometriosi e l'esposizione a diossine e DL-PCB. Questi composti si legano al recettore arilico (AhR), espresso sia sull'endometrio che sulle cellule immunitarie, provocando la stessa attività tossicologica. L'affinità di legame e la potenza tossica di ogni composto è espresso in relazione alla sostanza più tossica del gruppo (il TCDD), definito come il fattore di tossicità equivalente (TEF). La concentrazione di una miscela di congeneri è espressa in equivalenti di tossicità (TEQ), moltiplicando la concentrazione analitica di ogni composto dal suo TEF. Il TEQ di ogni singolo congenere viene poi sommato per ottenere il totale TEQ, che caratterizza la tossicità globale della miscela.

I meccanismi coinvolti negli effetti dannosi di tali composti sulla riproduzione sono ancora in corso di valutazione. Il recettore arilico (AhR) media la maggior parte degli effetti tossici delle "diossine" sulle funzioni cellulari, e attiva diversi geni tra cui il citocromo P450. L'esposizione ad agonisti AhR può determinare un processo simil-infiammatorio a livello dell'endo-

metrio (18). Bruner-Tran et al. (12,19), hanno dimostrato che la TCDD innesca una risposta simil-infiammatoria come il modello di interazione cellula-cellula nell'endometrio umano, che interferisce con la capacità del progesterone di sopprimere la metalloproteinasi di matrice (MMP) espressa nelle cellule epiteliali e stromali. Il progesterone durante la fase secretiva del ciclo mestruale determina una *down-regulation* della MMP dell'endometrio, in modo che lo sfaldamento dell'endometrio non si verifichi prima delle mestruazioni.

In riferimento alla patogenesi più accreditata del ruolo del reflusso di fluido mestruale nella cavità peritoneale durante la mestruazione, è probabile che in circostanze normali il tessuto endometriale venga eliminato dal sistema immunitario. Numerosi studi dimostrano che processi simil-infiammatori provocati da sostanze tossiche diossina-simili possono interferire con la normale fisiologia dell'endometrio e del sistema immunitario. Questa condizione può consentire la persistenza e lo sviluppo del tessuto endometriale all'interno della cavità peritoneale (12,19).

Nei nostri studi abbiamo trovato un'associazione significativa tra l'aumento dei livelli di alcuni PCB e la presenza di endometriosi, mentre non abbiamo trovato alcuna differenza tra le concentrazioni nel sangue di sostanze diossina-simili (PCDD, PCDF e dei 12 PCB diossina-simili) nelle donne con diverse fasi della malattia (4,5). In uno studio sul rapporto tra POPs e sistema immunitario nelle donne con endometriosi, abbiamo osservato che livelli elevati di alcuni PCBs e del p,p DDE sono associati ad alterazioni della funzionalità delle *natural killer* (NK) (20).

I risultati, spesso contrastanti, ottenuti nei diversi studi possono essere la conseguenza di differenze nei gruppi di controllo, dai metodi utilizzati per l'analisi delle sostanze, del tipo di congeneri studiati e dai test statistici utilizzati.

La selezione del gruppo di controllo è una possibile fonte di errore in uno studio epidemiologico. Le donne che vivono nella stessa zona devono essere reclutate sia come casi che come controlli, in modo che entrambi i gruppi siano stati esposti in modo analogo agli organoclorurati. Lo sviluppo di endometriosi come fattore di co-morbilità nelle donne infertili può confondere l'interpretazione dei risultati arruolando soggetti infertili senza la malattia come controlli (14). Un'altra potenziale fonte di errore è il metodo utilizzato per escludere la presenza di endometriosi nei controlli, la laparoscopica rimane l'unico strumento diagnostico affidabile per valutare la presenza o l'assenza della malattia.

Nei due studi che hanno rilevato un legame tra l'esposizione a PCB e endometriosi, la laparoscopia è stata eseguita in entrambi i gruppi per confermare o escludere la presenza della malattia (5,21).

L'allattamento è una importante via di escrezione dei PCB, che porta ad una significativa riduzione del carico corporeo di composti organoclorurati. Per evitare il fattore confondente dell'allattamento al seno, solo le donne nullipare o che non abbiano mai allattato devono essere arruolate (5,22).

Inoltre, anche il tipo di endometriosi può influenzare i risultati. Heilier et al. (13) hanno trovato che le concentrazioni di PCB e composti diossina-simili nel siero sono stati associati a un rischio significativamente maggiore di sviluppare noduli del setto retto-vaginale, mentre il rischio di sviluppare l'endometriosi peritoneale non è risultato statisticamente significativo. Gli Autori hanno quindi suggerito che gli organoclorurati possono causare lo sviluppo di endometriosi profonda. Gli studi futuri dovrebbero prendere in considerazione l'endometriosi peritoneale e i noduli di endometriosi profonda come entità distinte, al fine di valutare il possibile contributo eziologico degli organoclorurati. Esiste un'ampia letteratura sull'interazione tra fattori genetici ed ambientali nel determinismo di diverse condizioni patologiche. Fattori genetici e ambientali possono contribuire alla insorgenza e alla progressione dell'endometriosi. È stato analizzato il ruolo della presenza di mutazioni di alcuni geni, quali quelli responsabili della detossificazione come la glutatione transferasi (GST), come fattore di rischio per endometriosi sia da soli che in associazione con l'esposizione a PCBs. Vichi, et al. (6) hanno dimostrato che i polimorfismi GST di per sé non aumentano il rischio di sviluppare l'endometriosi. Tuttavia, una interazione gene-ambiente è stata osservata per GSTP1 e genotipi GSTM1 null modulando l'effetto dei PCBs.

Sono in corso studi volti a valutare se l'esposizione in utero, nell'infanzia e durante la pubertà possa aumentare il rischio di sviluppare l'endometriosi nell'età adulta.

In conclusione, gli studi eseguiti supportano l'ipotesi che l'esposizione ad inquinanti organoclorurati possa favorire la comparsa di endometriosi. I meccanismi coinvolti, tuttavia, non sono ancora chiari. Essi possono agire come sostanze tossiche del sistema immunitario e/o interferenti endocrini, interferendo con la sintesi degli estrogeni e/o con le risposte progesterone-dipendenti. Sono necessari ulteriori studi sia nell'uomo che negli animali per identificare i meccanismi con i quali queste sostanze tossiche favoriscano lo sviluppo di endometriosi.

Bibliografia

1. Porpora MG, Koninckx PR, Piazzè J, et al. Correlation between endometriosis and pelvic pain. *J Am Assoc Gynecol Laparosc* 1999;6(4):429-34.
2. Porpora MG, Pallante D, Ferro A, Crisafi B, Bellati F, Benedetti Panici P. Pain and ovarian endometrioma recurrence after laparoscopic treatment of endometriosis: a long-term prospective study. *Fertil Steril* 2010;93(3):716-21.
3. Giudice LC, Kao LC. Endometriosis. *Lancet* 2004;364(9447):1789-1799.
4. Porpora MG, Ingelido AM, di Domenico A, et al. Increased levels of polychlorobiphenyls in Italian women with endometriosis. *Chemosphere*. 2006;63(8):1361-7.
5. Porpora MG, Medda E, Abballe A, et al. Endometriosis and Organochlorinated Environmental Pollutants: A Case-Control Study on Italian Women of Reproductive Age. *Environ Health Perspect*. 2009;117(7):1070-5
6. Vichi S, Medda E, Ingelido AM, Ferro A, Resta S, Porpora MG, Abballe A, Nisticò L, De Felip E, Gemma S, Testai E. Glutathione transferase polymorphisms and risk of endometriosis associated with polychlorinated biphenyls exposure in Italian women: a gene-environment interaction. *Fertil Steril* 2012;97(5):1143-51.
7. Birnbaum LS, Cummings AM. Dioxins and endometriosis: a plausible hypothesis. *Environ Health Perspect* 2002;110(1):15-21.
8. Endometriosis in rhesus monkeys (*Macaca mulatta*) following chronic exposure to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin. *Fundamental and Applied Toxicology* 1993;21(4):433-441.
9. Guo SW. The link between exposure to dioxin and endometriosis: a critical reappraisal of primate data. *Gynecol Obstet Invest* 2004;57(3):157-73.
10. Hitchin D. Re: concerns about statistical methods. *Fundam Appl Toxicol* 1994;23:141-142.
11. Jacobson-Dickman E, Lee MM. The influence of endocrine disruptors on pubertal timing. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes* 2009;16(1):25-30.
12. Bruner-Tran KL, Yeaman GR, Crispens MA, Igarashi TM, Osteen KG. Dioxin may promote inflammation-related development of endometriosis. *Fertil Steril* 2008;89(5 Suppl):1287-98.
13. Heilier JF, Nackers F, Verougstraete V. Increased dioxin-like compounds in the serum of women with peritoneal endometriosis and deep endometriotic (adenomyotic) nodules. *Fertil Steril* 2005;84(2):305-12.
14. Tsukino H, Hanaoka T, Sasaki H, et al. Associations between serum levels of selected organochlorine compounds and endometriosis in infertile Japanese women. *Environ Res* 2005;99(1):118-25.
15. Eskenazi B, Mocarelli P, Warner M, et al. Serum dioxin concentrations and endometriosis: a cohort study in Seveso, Italy. *Environ Health Perspect*. 2002;110(7):629-34.
16. Fierens S, Mairesse H, Heilier JF, et al. Dioxin/polychlorinated biphenyl body burden, diabetes and endometriosis: findings in a population-based study in Belgium. *Biomarkers* 2003;8(6):529-34.
17. Niskar AS, Needham LL, Rubin C, et al. Serum dioxins, polychlorinated biphenyls, and endometriosis: a case-control study in Atlanta. *Chemosphere* 2009;74(7):944-9.
18. Rier S. The potential role of exposure to environmental toxicants in the pathophysiology of endometriosis. *Ann N Y Acad Sci* 2002;955:201-12.
19. Bruner-Tran KL, Osteen K. Dioxin-like PCBs and endometriosis. *Syst Biol Reprod Med* 2010;56(2):132-46.
20. Quaranta MG, Porpora MG, Mattioli B, et al. Impaired NK-cell-mediated cytotoxic activity and cytokine production in patients with endometriosis: a possible role for PCBs and DDE. *Life Sci* 2006 27;79(5):491-8.
21. Reddy BS, Rozati R, Reddy S, Kodampur S, Reddy P, Reddy R. High plasma concentrations of polychlorinated biphenyls and phthalate esters in women with endometriosis: a prospective case control study. *Fertil Steril* 2006;85(3):775-9.
22. De Felip E, Porpora MG, Di Domenico A, et al. Dioxin-like compounds and endometriosis: a study on Italian and Belgian women of reproductive age. *Toxicol Lett* 2004 21;150(2):203-9.